

# 第一章 真菌毒素概述

## 第一节 什么是真菌毒素

真菌 (fungus) 是有细胞壁, 不含叶绿素, 无根茎叶, 以腐生或寄生方式生存, 能进行有性或无性繁殖的一类微生物, 属于藻菌植物的一个门, 它最重要的特点是: 不分化为根、茎、叶; 不产生维管束; 没有叶绿素。真菌一般分为三纲一类, 即藻菌纲、子囊纲、担子菌纲和半知菌类, 多数具有分支或不分支的菌丝体, 少数为单细胞, 前者呈丝状, 叫做丝状菌, 也就是一般通称的霉菌 (mold), 后者呈圆形或椭圆形, 主要是酵母菌类。

丝状菌具有两种结构: 菌丝和孢子。菌丝是由孢子生长出的嫩芽延长所形成的, 交织在一起的菌丝叫做菌丝体。菌丝可以分为 3 类: 专司吸收营养的叫做营养菌丝; 生长在空气中的叫做气生菌丝; 产生孢子的叫做生殖菌丝。还可以根据菌丝内部是否有隔而分成无隔菌丝和有隔菌丝; 孢子是真菌的繁殖方式, 可分为有性孢子和无性孢子两大类。

真菌分布广泛, 土壤、森林、水体、沙漠甚至在南北极都有真菌的存在。

多数真菌是有益的或无害的, 如虫草、灵芝、木耳、银耳、食用菌、酵母等, 少数则可产生对动物及人类有害的、具有生物活性的

物质——真菌毒素 (mycotoxins)。真菌毒素是真菌寄生于谷物或水果等农作物上，在适宜条件下产生的，人畜食入即可引起急、慢性中毒，危害健康。

真菌毒素有数百种之多，与人类健康关系比较密切且研究较为详尽的主要有黄曲霉毒素 (aflatoxins)、赭曲霉毒素 (ochratoxins)、玉米赤霉烯酮 (zearalenone)、单端孢霉烯族毒素 (trichothecenes)、腐马毒素 (fumonisins)、黄绿青霉毒素 (citreovidin) 以及麦角生物碱 (ergot alkaloids) 等几大类。每类中还可以分为若干个亚型，如黄曲霉毒素可分为 20 多个亚型 (B<sub>1</sub>、G<sub>1</sub>、G<sub>2</sub>、M<sub>1</sub> 等)，单端孢霉烯族毒素更是多达几十种 (T-2、DON、DAS NIV 等)。

狭义真菌毒素中毒症是指产毒真菌寄生在粮食或饲料上，在适宜条件下产生有毒代谢产物，人畜食用后所导致的中毒。广义上则包括食用本身即含有毒素的真菌或被真菌毒素污染的食物 (饲料) 所引起的中毒在内。两者的本质区别在于是否存在“产毒”的过程，即真菌污染粮食或饲料后产生有毒代谢产物的过程，而且通常情况下，前者的发病相对缓慢，多数表现为慢性中毒，偶有急性中毒的事件发生 (如赤霉病麦中毒症等)；后者则经常表现为偶发的食物中毒 (如蘑菇中毒等)。

粮食中常见真菌包括 5 个菌属，即毛霉属 (*Mucor*)、根霉属 (*Rhizopus*)、曲霉属 (*Aspergillus*)、青霉属 (*Penicillium*) 和镰刀属 (*Fusarium*)。在这 5 个菌属之中，前 2 个菌属在通常情况下一般不产毒，产毒的菌属主要是后 3 个菌属。粮食或饲料中的真菌主要来自于土壤的污染，尔后在作物生长、发育、成熟、收割、加工及贮藏过程中产生有毒代谢产物。易被真菌污染并产生真菌毒素的农作物主要有玉米、小麦、大麦、燕麦、高粱、黑麦、花生、咖啡、甘蔗、红薯、稻秸及某些油料作物等，甚至在啤酒、牛奶、人乳中也可检出真菌毒素及其代谢物。据联合国粮农组织 (FAO) 估计，全球有 1/4~1/3 的谷物受到真菌毒素的污染，饲料污染的情况则可能

更为严重。

真菌毒素毒作用的共同特点是：分子量小，耐热，一般不因通常的加热烹调所破坏；可引起多脏器及系统的损害，具有细胞毒性和遗传毒性；被污染的粮食和饲料常常在外观上是“正常的”（那种明显霉变的粮食或饲料已经越来越少了），其长期慢性摄入对人畜的危害后果不清；粮食或饲料一旦被污染则很难去除。

## 第二节 真菌毒素的研究历史

真菌毒素的研究历史不长，20世纪以前，有关真菌毒素引起人畜中毒的描述和结论都是猜测性质的，如关于麦角中毒的症状在《圣经旧约》中就已经有了描述。近来还有的专家推测“伊特鲁利亚文明”的衰退、公元前500年前雅典发生的危机可能与T-2毒素和玉米赤霉烯酮中毒有关，也有专家认为埃及金字塔考古人员神秘死亡事件可能与赭曲霉毒素有关。

尽管真菌毒素的研究历史不长，但历史上由真菌毒素导致的中毒事件却颇不少见。第一次肯定真菌毒素与人畜疾病关系的报道是在20世纪初，这是关于麦角碱所引起的中毒的报道。1960年，大不列颠发生了10万火鸡中毒死亡事件，经调查证明是因食用了制油后的花生残渣所致，其中含有大量的黄曲霉毒素。随后，有关真菌毒素与人畜健康的研究报道逐渐增多，真菌毒素的“家族”也不断扩大，研究日益深入。如腐马毒素引起大牲畜的中毒、死亡的事件，驴、马、骡等食用霉捂的饲料出现神经系统中毒的症状，表现为迟钝、躁狂交替出现，四肢麻痹等，死亡率可高达50%，严重影响畜牧业生产。第二次世界大战期间，在俄罗斯发生ATA（食物中毒性白细胞缺乏症）病的严重流行，死亡人数超过几十万（另一说法是超过了百万人），患者主要表现为皮肤出现出血点、化脓性咽峡炎、白细胞降低、骨髓抑制乃至衰竭，最后致死。本病的

最早记载应该是 19 世纪初，多名学者用了大约 40 年的研究最后证实了是本病由于食用了霉捂越冬的粮食所引起的中毒症，最可能的病因物质是由镰刀真菌所产生的 T-2 毒素。赤霉病麦中毒病是由于食入发生赤霉病的小麦而导致的中毒，以呕吐、头晕、恶心、腹泻为主要症状，伴有中枢神经系统功能紊乱，俗称“醉谷病”，其病因是禾谷镰刀菌产生的 DON 和 NIV 所导致。日本学者上野 (Ueno) 认为发生在亚洲地区的心脏病性脚气病 (beriberi) 的病因是黄绿青霉毒素。第二次世界大战后，一些国家大力开发了费用低廉、杀伤力强的生化武器，其中即有用单端孢霉烯族毒素生产的一种黄色的液滴状生化武器，叫做“黄雨”，可迅速使敌方丧失战斗力。

我国关于霉菌毒素中毒的研究晚于国外，虽然在新中国成立前就开展了这方面的研究探索，但进展极其缓慢，新中国成立后，研究进展极快，成就巨大：如建国初期的大牲畜中毒的研究、黄曲霉毒素致肝损害的研究等都取得了较大进展。这里主要介绍以下几个案例，供读者参考。

①霉变甘蔗中毒：本病主要存在于我国，一般发生在春季，2~3 月份最多，病死率很高，可达 10%。本病是由食用过冬的保管不当的甘蔗导致，主要症状为头晕、头痛、呕吐、腹痛、视力障碍，继而出现抽搐、强直等神经症状，最后昏迷、呼吸衰竭而死亡。眼球上翻凝视症状具有诊断意义。1984 年，刘兴玠证实本病的病因为节菱孢霉产生的三硝基丙酸。

②T-2 毒素与大骨节病的病因研究：大骨节病是主要存在于我国的一种地方性骨关节病，主要侵害生长发育期的儿童，无民族和性别差异，症状为关节增粗、疼痛、干骺早闭，进而导致畸形、身材矮小，甚至致残。分布于从东北到青藏高原的狭长地带内，本病的病因研究可以追溯到 150 年前，先后有俄罗斯、日本等国的学者研究本病病因，病因假说不下 40 种，但对大骨节病病因研究贡献最突出者是我国学者。哈尔滨医科大学的杨建伯教授经多年艰苦的探索提出引起大骨节病的病因物质是病区

产谷物内超常聚集的 T-2 毒素，引起国内外医学界的广泛关注。

克山病与黄绿青霉毒素研究：克山病也是分布于我国的地方病，其病因同样也困扰诸多研究者多年，近来有学者认为克山病与病区产谷物黄绿青霉污染有关，用黄绿青霉毒素投予实验动物，引起了心肌变性、坏死，在病区产的粮食中也检出了黄绿青霉毒素。也有学者认为克山病与串珠镰刀菌素有关。④地方性乳腺增生症与玉米赤霉烯酮的研究。中国协和医科大学的流行病学博士张永红教授证明了地方性乳腺增生症的病因是荞麦中的玉米赤霉烯酮 (Zea)。⑤DON 与骨关节炎关系的研究：由作者首次提出，目前正进行动物模型和发病机制的研究。详见第四章第三节。

近来，已有学者提出人类的心脑血管疾病、骨骼系统疾病、肿瘤等可能与真菌毒素有关并正在进行艰苦的探索，因此，有理由相信，真菌毒素必将成为今后的研究热点内容之一。

### 第三节 真菌毒素的产毒条件和污染水平

真菌毒素存在于粮食或饲料中，这是引起人畜中毒的物质基础。由于真菌毒素是自然生成的，所以其产毒依赖于一定的环境自然条件，因此不同地区、不同年度、不同粮食及饲料的种类间的含量差异可以很大。如条件适宜，产毒可以成倍增长，因此易发生偶发的急性中毒事件，否则产毒减少，因此谷物或饲料中真菌毒素的含量在年度间、地域间的差异可以很大。

并非所有的真菌都产毒。也并非一种真菌只产生一种毒素，一种毒素也可由不同真菌产生，即真菌产毒没有专一性，如岛青霉可以产生岛青霉素、黄天精毒素等几种毒素；T-2 毒素可由三线镰刀菌产生，其他菌株如禾谷镰刀菌、拟枝孢镰刀菌等也可产生该毒素。可产毒的三线镰刀菌也不是全部菌株都可以产生 T-2 毒素

所以产毒真菌和产毒菌株的内涵是不相同的。产毒菌株的产毒能力也并非总是一成不变的，产毒菌株经连续培养几代后，可以完全丧失其产毒能力。因此，首先是要有产毒菌株，其次才是各种因素对产毒的影响。

影响真菌产毒的主要因素有温度、湿度、光照、氧分压、pH 值、碳源、氮源、矿物质以及与真菌寄生的基质性质有关。

温度是真菌生长和产毒的重要因素，绝大多数真菌的最适温度为  $25\sim 30^{\circ}\text{C}$ ，温度过高和过低，都不利于真菌生长和产毒，如曲霉和青霉的最适生长温度分别为  $23\sim 34^{\circ}\text{C}$  和  $20\sim 35^{\circ}\text{C}$ 。曲霉在低于  $3^{\circ}\text{C}$  和高于  $47^{\circ}\text{C}$  即不生长，青霉则在低于  $-10^{\circ}\text{C}$  和高于  $37^{\circ}\text{C}$  不生长。但是，凡规则皆有例外，有的真菌可以耐受较大的温度变化，如 T-2 毒素的最适产毒温度为  $5\sim 15^{\circ}\text{C}$ ，但在温度低于  $-10^{\circ}\text{C}$  或高于  $40^{\circ}\text{C}$  时仍可产毒，没有明显的上下限。一般真菌产毒的适宜温度往往比其适宜生长温度略低一些，在营养状况较差时更易于产毒。

湿度是真菌生长和产毒的又一重要条件，没有水，真菌的一切生命活动将停止，最终死亡，因此，干燥是保管粮食的有效方法。粮食的水分含量过高和过低都不利于真菌的生长和产毒，如小麦在相对湿度 63% 时、水分含量在 14% 以下时，基本不发生霉变；而当水分含量太高时，真菌会因为营养吸收不良而发育不好。这里我们可以看出，粮食的水分含量与所处的环境有关：外界环境相对湿度大，粮食则吸收水分，反之则向外界环境中挥发水分。当外界环境湿度一定时，经过一段时间后，粮食中水分含量与外界环境达到平衡，我们称此时粮食的水分含量是该相对湿度下的平衡水分。不同粮食的平衡水分不同，如在相对湿度为 70% 时，小麦和大豆的平衡水分分别为 14%、11%，在此平衡水分下，真菌基本不生长发育。一般来说，粮食水分在 17%~18% 时最容易产毒，因此及时晾晒是防止霉变的有效方法。

温度和湿度之间还存在着相互作用，例如，当水分含量适宜

时,真菌对环境温度的要求下降,可以适应较大的温度变动,反之则不能适应较剧烈的温度变化。关于各种因素的交互作用的研究报道很少,作者在实验室条件下,通过对镰刀菌生长、产毒条件的观察,发现镰刀菌生长、产毒与环境条件关系密切:适宜温度(20~30℃)、湿度(40%)条件下,真菌生长旺盛,孢子数量多;碱性(pH>7.0)条件则明显抑制其生长,孢子数量也减少;无机元素对其生长无明显影响;低温尤其是变温条件下,镰刀菌易产生 T-2 毒素;碱性条件可明显抑制真菌产毒;温度、湿度和 pH 之间存在明显的交互作用。此外,作者还发现粮食种类与状态也与真菌产毒密切相关,粮食的状态(粉状、颗粒状)可影响真菌毒素的产生,粉状粮的产毒大于粒状粮;粮食的储存条件主要是湿度和温度,对真菌毒素的产生也有重要作用。

真菌的生长必须从外部获取碳源和氮源,因此,真菌在含糖量较高的食物上易于生长和产毒;此外,氧分压、光照、辐射、基质的 pH 和渗透压等对真菌的生长和产毒也有较大影响。这方面的材料甚少,是一个有待深入探索的领域,如作者的研究工作证明,镰刀菌在玉米基质上较之大米基质更易产毒。

尽管影响真菌产毒的因素很多,但还是可以粗略地把真菌的产毒条件分为三种类型:全天候的产毒型,这类真菌在任何条件下都可产毒,而且其产毒量差异不大,属于这类的有玉米赤霉烯酮;在热带或副热带地区易于产毒型,属于此类的有黄曲霉毒素;③在温带或凉湿地区易于产毒型,属于此类的有单端孢霉烯族毒素和赭曲霉毒素等。当然这一划分不是完全绝对的,如单端孢霉烯族毒素可以在任何条件下产毒,但在凉湿条件下产毒更多。

真菌的这种产毒特性,是造成世界各地谷物和饲料中真菌毒素种类及含量差异的重要原因。

由于真菌分布的广泛性,尽管其产毒受制于环境条件,依然使其成为全球性的谷物污染物,只是各地区谷物中含量、种类等存在差异罢了。如朝鲜报道其谷物中 DON 的污染率为 50%,美国和

前苏联则为 88%和 81% , 荷兰更是高达 90% , 有的地区 DON 的污染甚至接近 100%。其含量差异也非常明显, 含量低的仅为痕量检出, 含量高的则可达 5mg/kg ; 黄曲霉毒素污染率从 30% 到 95.9% 不等, 其含量范围为 0~1 500 $\mu$ g/kg ; 表 1-1 列出了国外的部分检测数据。

我国的污染情况也很严重, 表 1-2 列出了我国部分地区的检测结果。

表 1-1 国外玉米和小麦中几种真菌毒素的含量

谷物	样品数	真菌毒素	阳性率(%)	平均含量 ( $\mu$ g/kg)	范围( $\mu$ g/kg)
小麦 (1996)	46	DON	40	39	痕量~580
		NIV	28	24	痕量~60
		ZEN	12	9	痕量~16
小麦 (1997)	69	DON	90	87	痕量~650
		NIV	92	32	痕量~232
		ZEN	12	7	痕量~9
玉米 (1996)	17	DON	84	400	痕量~2 800
		NIV	78	276	痕量~1 300
		ZEN	95	335	痕量~1 750
		FB <sub>1</sub>	72	370	痕量~3 300
玉米 (1997)	24	DON	76	100	痕量~558
		NIV	47	69	痕量~250
		ZEN	90	15	痕量~40
		FB <sub>1</sub>	66	320	痕量~1 100

表 1-2 我国部分地区的粮食真菌毒素含量

地区	样品数	毒素	阳性率(%)	平均含量 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	范围( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
上海	100	DON	53	280.9	0~1 919.7
		NIV	35	103.4	0~1 428.0
		AFB <sub>1</sub>	45	0.86	0~8.0
东北	47	T-2	38	278.0	0~748.0
西北	17	T-2	58	310.0	0~520.0

目前，空气中的真菌毒素引起了一些研究者的注意，现已证明，空气中含有多种真菌毒素，污染严重的空气含量很高，空气中的真菌毒素可通过呼吸道、皮肤进入人体，而且吸收非常迅速，长期处于这样的环境之中对人体健康影响极大。这方面的研究刚刚起步，文献不是很多，但可能成为今后又一研究内容。

## 第四节 真菌毒素的中毒症状

真菌毒素一般都是小分子量的物质，通常不被食物的烹调加热所破坏，所以在某种程度上比细菌毒素更危险，因细菌毒素的分子量很大，在加热时极易破坏其化学结构，从而丧失毒性。一次大量摄入真菌毒素可引起急性中毒，急性中毒主要引起腹泻、恶心、呕吐、腹痛等消化系统功能紊乱症状，严重者可发生嗜睡、昏迷甚至死亡。慢性中毒的症状多种多样，而且不同毒素间的差异很大。真菌毒素引起的中毒不但与毒素的毒性和含量有关，也与加工工艺有关，某些加工方式可以使毒素大大增加，如制粉过程和啤酒麦芽发酵的过程中都可使毒素含量成倍增加。此外，一些动物食品如牛奶、肉类因真菌毒素的残留也可对人体发生损害。表 1-3 列出了某些毒素引起实验动物的症状。

表 1-3 某些真菌毒素中毒症状及体征

毒 素	症 状 及 体 征
黄曲霉毒素	肝损害 出血 免疫下降 癌症
赭曲霉毒素	腹泄 ,肾功能障碍 ,生长发育迟缓 ,肝、膀胱损害 ,造血改变
玉米赤霉烯酮	母猪 : 外阴及阴道水肿 , 阴道或直肠脱垂 , 子宫肥大 , 卵巢萎缩 , 生育力下降 , 流产 , 乳腺肿大 , 消瘦 , 拒绝交配等 公猪 : 乳腺肿大 , 包皮水肿 , 睾丸萎缩 , 精子畸形等 猪崽 : 外阴和乳腺坏死性炎症 , 死亡
单端孢霉烯族毒素	肠功能紊乱 ( 腹泻、呕吐 ) , 食欲下降 , 出血 , 口腔黏膜和真皮损害 , 免疫力下降 , 造血改变 , 发育迟缓
黄绿青霉毒素	惊厥 , 呕吐 , 麻痹 , 呼吸困难 , 肝、心损害
富马毒素	肺水肿 , 胰腺损害、坏死 , 肝损伤 , 血液改变

这里须提及 3 点 : 动物和人的种属差异较大 , 中毒的症状可能有所不同 , 比如 , 马、猪、猴、兔子、猫和鸽子对 DON 毒素很敏感 , 极易出现中毒症状 , 但牛、羊和成年的鸡、鸭就非常不敏感 ; 真菌毒素的长期低剂量摄入的危害目前远未搞清 , 可能一些毒作用目前还没有被发现或证明 , 尤其是真菌毒素与人类慢性病、致畸、致癌等作用不可忽视 , 而且 , 随着全球气候的变化、耕作制度的改变、粮食供应也比以前充足等因素 , 明显的霉变粮食和饲料已不多见 , 所以目前甚少见到急性中毒的例子 , 主要危害是慢性中毒 , 而慢性中毒的临床症状很不明显 , 也缺少特异性 , 因此不能单纯以是否有中毒症状来判定是否是属于真菌毒素中毒 ; 由于粮食中通常不是存在一种真菌毒素 , 而是多种毒

素并存，因此会出现毒素间的协同作用、相加作用等不同情况，从而使中毒后所产生的症状更加复杂。如镰刀菌酸（fusarique acide）可使富马毒素毒性增强；DON 和 DAS 联合作用时毒性增加；在镰刀菌酸存在的条件下，玉米赤霉烯酮在牛奶中的分泌增加 2~5 倍等。

## 第五节 真菌毒素的毒作用及其代谢

### 一、毒作用

1. 黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) 该毒素有致癌性，可抑制 DNA、RNA 的合成，也是细胞毒，还可破坏凝血机制、破坏某些酶类等，从而产生症状或致癌。

2. 赭曲霉毒素 (OTA) 该毒素可抑制 ATP 酶、琥珀酸脱氢酶以及细胞色素 C 氧化酶，从而对羟化过程产生作用。

3. 单端孢霉烯族毒素 (Ts) 该类毒素的作用机制主要是抑制蛋白质、RNA、DNA 等大分子物质的合成，破坏细胞膜和酶类的功能，对造血系统和免疫系统有较强的毒作用。

4. 玉米赤霉烯酮 (Zea 或 ZEN) 具有雌激素样作用。

5. 富马毒素 (F) 作用机制不甚明了，但与某些癌症的发生密切相关。

6. 串珠镰刀菌素 (MON) 主要通过抑制丙酮酸脱氢酶、谷胱甘肽过氧化物酶等发生作用。

### 二、代 谢

真菌毒素的代谢机制尚未完全明了。目前研究表明，真菌毒素经肠道吸收后，P-450 酶系、酯酶系统对真菌毒素的降解发挥着巨大的作用，真菌毒素的降解主要有羟化反应、氧化、醇化反应等，另外，肠道中的一些微生物也可代谢毒素。多数毒素的降解物毒

性降低，也有少数毒素的降解物毒性反而升高。如玉米赤霉烯酮被代谢成  $\alpha$ -ZEN 后，毒性明显增强。

真菌毒素的代谢物主要经尿液、粪便、乳汁等排出体外。AFB<sub>1</sub>、OTA、CIT、ZEN 等主要通过尿液排泄。粪便排泄的毒素既有未被吸收的部分也有毒素的代谢物。DON 还可以经胆汁排泄，而且经胆汁排泄的在肠道中很少再被重新吸收，大部分随粪便被排出体外。T-2 毒素也主要经粪便排泄。表 1-4 列出几种主要毒素的代谢方式及产物。

毒素在奶中的排泄对消费者而言是一潜在的威胁。黄曲霉毒素在奶中的排泄量很少，占 0.3%~2.2%。DON 在奶中的排泄量与投予量有关，给母牛一次投予 920mg 的 DON 在奶中可以检测到 4 $\mu$ g/L 的游离 DON(或结合 DON)。给母羊投予放射标记的 DON，发现乳汁中很快就有了放射性，但其量甚微，几乎全部从尿中排泄。奶中的 T-2 代谢物为 0.05%~2%。而只有在大量投予 OTA 时，才能在奶中检出其代谢物。表 1-5 是毒素在牛奶中的排泄情况 其中 mg/kg 是按每千克体重进行染毒实验投予的剂量；ppm(百万分之一)是饲料自然污染的毒素含量；而 mg 或 g 则是每日投予的绝对量。

表 1-4 几种主要毒素的代谢方式及产物

毒素	P-450 氧化	不确定的氧化	降解	羟化	葡萄糖苷化	其他
AFB <sub>1</sub>	epoxyde AFM <sub>1</sub> AFP <sub>1</sub> AFQ <sub>1</sub>		Aflatoxiol		AFM <sub>1</sub> AFP <sub>1</sub> AFQ <sub>1</sub>	epoxyde
OTA	4-OH-OTA			α-OTA		
T-2		3'OH-T-2 3'OH-HT-2 3',7diOH-T-2 3',7diOH-HT-2		HT-2 neosolariol T-2 triol T-2 tetraol MAS Scirpenetriol	HT-2 neosolariol	
DAS						
DON				DOM <sub>1</sub>		DON DOM <sub>1</sub>
ZEN			α-zearalenol β-zearalenol		α-zearalenol β-zearalenol	
FB <sub>1</sub>			FB <sub>1</sub> monoester FB <sub>1</sub> aminopentol			

表 1-5 几种毒素在奶中的排泄情况 (母牛)

真菌毒素	剂 量	暴露天数	奶中代谢物	奶中的含量(ppb)
AFB <sub>1</sub>	0.35mg/kg	3	AFM <sub>1</sub>	0.1
DON	1.8mg/kg	1	DON	<4.0
	66ppm	5	DOM-1	30
	880ppm	3	结合 DOM <sub>1</sub>	220
FB <sub>1</sub>	3mg/kg	14	FB <sub>1</sub>	0
OTA	50mg	4	$\alpha$ -OTA	150
	1g	4	OTA	100
			$\alpha$ -OTA	700
T-2	50ppm	15	T-2	10~160
ZEN	25ppm	7	ZEN	481
			$\alpha$ -zearalenol	508
			$\beta$ -zearalenol	370
	1.8g and 6g	1	ZEN	4.0 and 6.1
			$\alpha$ -zearalenol	1.5 and 4.0
			$\beta$ -zearalenol	4.1 and 6.6

真菌毒素的代谢是今后研究的重点内容,毒素的代谢特点、廓清规律、排泄途径与预防真菌毒素中毒密切相关,这方面的研究可提供有效的技术措施。

## 第六节 真菌毒素的检测方法

粮食中真菌毒素含量的检测方法一直是制约真菌毒素与人类疾病研究进展的关键。真菌毒素含量的检测方法可分为 3 类:①理化检测方法,包括层析、气谱、液谱、气(液)质联仪等;②生物学检测法,包括皮肤毒性实验、致呕吐实验、种子发芽实验等;③免疫化学检测法,是利用抗原抗体反应的原理进行真菌毒素检测,目前较为常用的是酶联免疫吸附试验(ELISA),还有放免法(RIA)。3 种方法中以免疫化学法最为灵敏、特异,但需要特殊的检测试

剂——抗体。

真菌毒素的检测比较困难，因粮食中干扰物质多且难于去除，因此，粮食中真菌毒素含量的检测一直是制约真菌毒素与人畜健康关系研究的瓶颈，目前最常用的方法是理化检测法，其提取检测大体上可分为以下几个步骤。

1. 从样品中提取真菌毒素 本步骤一般是用有机溶剂（如乙腈、乙醇等）浸泡样品、过滤 提取毒素。

2. 分离纯化真菌毒素 因为样品中含有大量的蛋白、脂肪、糖和无机盐等多种物质，因此分离纯化非常关键，通常是将提取的有机溶剂经石油醚或正己烷处理，以除去脂质和杂质，但这一方法较为繁琐，且效果也不尽如人意；利用 SPE（固相萃取）分离纯化真菌毒素的技术已经很成熟，这一方法是将提取的有机溶剂浓缩后，过 SPE 柱，先洗脱杂质，然后在把目标毒素洗脱下来进行检测；目前还发明了“免疫亲和柱”的分离纯化方法，所谓免疫亲和即是在载体上附着了目标毒素的抗体，利用抗原抗体反应来特异性分离目标毒素。

3. 检测 分为两类： 如果所检测的毒素无特征紫外吸收光谱或无荧光的话，就必须进行样品的衍生，以便能用气谱的 ECD 检测 DON、DAS、NIV 和用 HPLC 的荧光检测器检测 F；而对于 AFB 和 AFG 来说，衍生能增加其检测的灵敏度与特异度；②如果毒素具有紫外特征吸收峰或有荧光的话，即可以直接上机进行检测，如 AFM、CIT 和 OTA 等。

4. 其他 也有的采用薄层等其他分析方法进行检测。

各地真菌毒素的检测结果存在较大差异，其原因主要有两个方面，一是粮食中真菌毒素的本底值，另一是检测方法的灵敏度。本底值如前所述，与产毒菌株、产毒条件密切相关，这是各地粮食及饲料中真菌毒素含量存在差异的物质基础。检测方法的灵敏度是又一重要原因，有的方法灵敏度很低，当然就无法检测到真菌毒素。因此，在比较不同地区的真菌毒素污染水平时，要注意检测方

法是否一致，方法一致时还要看其灵敏度是否相同，否则会得出错误结论。

真菌毒素检测的详细步骤请参考以下的章节。

## 第七节 粮食中真菌的培养分离 纯化及鉴定

粮食中的真菌毒素是真菌污染粮食后，在适宜条件下产生的，因此，分析毒素的来源和种类时需要了解粮食被真菌污染的程度及种类，因此必须进行粮食真菌侵染状况的研究。

培养、分离纯化粮食中的真菌，并不需要特别复杂的设备。具备了干式及湿式灭菌器、洁净工作台、光学显微镜、培养箱、冰箱、天平，再加上接种环（针）、酒精灯和一些玻璃器材（培养皿、试管、吸管等）即可以进行工作了。

1. 分离纯化 整个分离培养真菌的工作过程要牢记一个原则：这就是要遵循‘无菌’的操作原则。

第一个碰到的问题必然是样品的采集，主要应注意 3 个问题：

①样品的代表性；②样品采集的时间、地点和避免人为的污染；③样品检测前的贮藏条件。

样品的代表性是必须加以注意的，一般分几个部位或几层采集粮样，然后混匀，放于采集容器内带回，一般采集 500g 左右。采集样品应用无菌的容器和工具采集，一般用牛皮纸口袋盛装，要避免污染。要尽量缩短检测前的贮藏时间，如须贮藏，应该对样品进行干燥处理，放低温条件下保管；如不检测真菌的侵染，而只进行真菌毒素的检测，则可进行消毒处理，这样更有利于样品保管。

样品的采集时间对检测结果影响甚大，一年四季的真菌侵染和产毒有很大差异，因此应标明样品采集的时间和地点，以便对比分析。

然后，要将粮食表面污染的真菌洗净，先用 75% 的乙醇浸泡

粮食颗粒 1~2min (已经去壳的谷物免去此步骤), 用生理盐水和无菌水反复冲洗, 然后将粮食子粒接种到培养基上, 待生长出菌落后, 进行纯化, 纯化一般用划线法或“钓菌技术”, 放平板或斜面培养基再培养一段时间后进行观察鉴定 (具体方法请参照微生物培养手册, 这里不复赘述); 如果是粉状粮食, 则需要采用稀释法进行分离培养, 然后再采用划线法进行纯化。

如果是粉状粮样, 则需要无菌条件下, 取 1g 样品放入 10ml 无菌水中, 用力振荡, 混匀, 即为 1:10 的稀释液, 然后依此类推, 再取此液 1ml 再加入 9ml 的无菌水中, 即为 1:100 的稀释液, 一般做三个稀释等级的培养, 即 1:10, 1:100, 1:1000。分别取 1ml 倾入培养基上进行培养。

分离不同的真菌, 所选用的培养基也不相同。培养基有天然的、半天然的和人工的 3 种, 可视具体情况加以选择, 一般分离常见真菌最常用的是马铃薯葡萄糖琼脂培养基或察氏培养基, 特殊需要可采用特殊的选择性培养基。

2. 结果 记录 100 粒粮食被真菌的污染总数和分类数, 如果是粉状粮样, 则须记录每克样品中的菌落总数和分类数。

真菌的鉴定分为宏观观察和镜下观察两个步骤。鉴定的主要依据是菌落形态特征、菌丝特征和孢子。特殊需要时, 可以做生理和生化的相关检测试验。

3. 宏观观察 首先观察培养特征, 包括菌落的生长速度、菌落大小、形态结构、颜色、质地、表面特征等几方面, 再与真菌鉴定手册比较, 基本可以确定真菌的属, 有经验的研究人员通常仅根据肉眼观察即可确定真菌的属性, 当然, 确定到种则比较困难了。

真菌的外观形态有很大差异, 有的呈蜘蛛网状, 有的呈棉絮状, 还有的呈纽扣状、皮革状、绒状等, 有的表面上还有特殊的饰纹和液滴。此外, 颜色也是鉴定的依据之一, 有的为青色, 有的为黄绿色、粉红色、黑色等, 观察颜色时, 不能只观察正面, 还要观察培养皿的背面, 因有的真菌的营养菌丝可以分泌颜料, 使培养基的下